รายงานการวิจัย

โครงการวิจัยการยับยั้งการขึ้นของเชื้อราแอสเปอร์จิลลัส บนถั่วลิสงโดยการเคลือบด้วยไคโตซาน

Inhibition of Aspergillus on Peanuts by Coating with Chitosan

โดย

ผศ.ดร. ดุลยพงศ์ วงศ์แสวง

นางสาวชญานิษฐ์ จำปี

นางสาววรีภรณ์ รัตนิสสัย

ภาควิชาวิศวกรรมนิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน พ.ศ. 2556

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2555

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความกรุณาสนับสนุนโครงการวิจัยนี้และจัดสรรงบประมาณแผ่นดินให้อย่างเพียงพอ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. ชยากริต ศิริอุปถัมภ์ ที่ได้ให้ข้อมูลและคำแนะนำต่างๆ เกี่ยวกับไคโตซานตลอดโครงการวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ให้ข้อแนะนำในการปรับปรุงงานวิจัยนี้ให้ดีขึ้นและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ฉายรังสีแกมมาไคโตซาน

บทคัดย่อ

ได้ทำการฉายรังสีแกมมาไคโตซานด้วยความแรงรังสี 10, 30, 50, 70 และ 90 kGy ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีโดยการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FTIR ผลที่ได้คือไคโตซานไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลักหลังการฉายรังสีแกมมา หลังจากนั้นเตรียมสารละลายไคโตซานเพื่อเคลือบถั่วลิสง โดยนำผงไคโตซานมาละลายในกรดอะซิติก 2 % (v/v) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายไคโตซานเป็น 1, 2, 5 และ 10 % (w/v) และปรับค่า pH ให้เป็น 5.6 ด้วย 6 M NaOH หลังจากนั้นจุ่มถั่วลิสงลงในสารละลายและนำขึ้นมาวางในภาชนะบรรจุเพื่อรอการขึ้นของเชื้อรา ผลที่ได้คือการเคลือบถั่วลิสงด้วยไคโตซานสำหรับทุกความเข้มข้นและทุกน้ำหนักโมเลกุล สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาถั่วลิสงได้เป็นอย่างดี เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เคลือบนั้น สามารถสังเกตเห็นเชื้อราขึ้นได้ใน 16 วันโดยเฉลี่ย แต่ชุดที่เคลือบสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้อย่างน้อยประมาณ 22 วันโดยเฉลี่ย และถั่วลิสงที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% สามารถต้านการขึ้นของเชื้อราได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นอื่นๆ และที่ผ่านการฉายรังสีที่โดสอื่นๆ (รวมถึงที่ไม่ได้ฉายรังสีด้วย) เพราะสามารถยืดระยะเวลาการขึ้นของเชื้อราได้นานถึง 32 วันโดยเฉลี่ย หรือประมาณ 2 เท่าของถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบ เมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30 - 40°C และที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70 - 90% โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% พบว่ายิ่งค่าความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น ราก็จะขึ้นไวขึ้น โดยที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90% ที่ 30°C ราได้ขึ้นภายใน 5 วัน ดังนั้นนอกจากการเคลือบด้วยไคโตซานอย่างเหมาะสมแล้ว ความชื้นที่ต่ำในสถานที่จัดเก็บก็เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันการขึ้นของเชื้อราบนถั่วลิสง

Abstract

Chitosan was irradiated with gamma ray with the following doses: 10, 30, 50, 70 and 90 kGy. Characteristics of irradiated chitosan were analyzed for its functional groups using FTIR technique. Results indicated that there was no change in the main structure of irradiated chitosan. Chitosan solutions for coating peanut were prepared by dissolving chitosan powder in 2 % (v/v) acetic acid to obtain chitosan concentrations of 1, 2, 5 and 10 % (w/v). The pH of the solutions were adjusted to 5.6 using 6 M NaOH. Peanuts were dipped into chitosan solutions, brought up and placed in containers waiting for Aspergillus to become visible. Results revealed that for all chitosan concentrations and molecular weight studied, Aspergillus was significantly inhibited, as the fungi became visible in about 15 days on average for the control set without any coating. However, Aspergillus wasn't become visible for the chitosan-coated peanuts until at least 22 days on average. Peanuts coated with chitosan irradiated at 50 kGy and at 5% concentration exhibited the best anti-Aspergillus ability compared to other concentrations and irradiation doses (including non-irradiated chitosan), as the fungi wasn't become visible for at least 32 days on average, or about 2 times that of uncoated peanuts. When tested at 30 - 40°C and 70 - 90% relative humidity using peanuts coated with chitosan irradiated at 50 kGy and 5% concentration, it was found that the higher the relative humidity, the faster the Aspergillus became visible. At 30°C and about 90% relative humidity, the fungi became visible in 5 days. Therefore, besides appropriately coating peanuts with chitosan, low humidity is also very important in preventing Aspergillus.

สารบัญเรื่อง

หน้า

บทนำ 1

เนื้อเรื่อง 8

อภิปรายผลการทดลอง 43

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 48

บรรณานุกรม 50

ภาคผนวก ก 51

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	คุณสมบัติของไคโตซานที่จัดซื้อ	8
ตารางที่ 2	ระยะเวลาเฉลี่ยที่วางถั่วลิสงไว้จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น	34
ตารางที่ 3	ระยะเวลาที่ทำการทดสอบที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ โดยใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น	41

สารบัญภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	เครื่องฉายรังสีแกมมา Gammacell 220 Excel	9
รูปที่ 2	ไคโตซานที่ไม่ได้ฉายรังสีและที่ผ่านการฉายรังสีที่ความแรงรังสีต่างๆ	10
รูปที่ 3	Spectrum ที่ได้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ไคโตซานด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)	11
รูปที่ 4	ผลการวัดน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)	13
รูปที่ 5	สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) ที่เตรียมจากไคโตซานที่ฉายรังสีที่โดสต่างๆ	14
รูปที่ 6	ถั่วลิสงดิบเลาะเปลือกที่ใช้ในการทดลอง	15
รูปที่ 7	การทดลองที่ไม่ได้นำผลมาใช้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่สามารถใช้ถั่วลิสงดิบที่ไม่ได้เลาะเปลือกในการทดลองนี้ได้	16
รูปที่ 8	การจัดวางภาชนะบรรจุถั่วลิสงที่เคลือบด้วยไคโตซาน	17
รูปที่ 9	ถั่วลิสงที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซาน	18 - 21
รูปที่ 10	ตัวอย่างถั่วลิสงที่ขึ้นรา	22 - 25
รูปที่ 11	เปรียบเทียบราที่ขึ้นบนถั่วลิสงในการทดลองนี้กับรา Aspergillus	26 - 33

หน้า

รูปที่ 12	กราฟระยะเวลาเฉลี่ยที่วางถั่วลิสงไว้จนสามารถสังเกตเห็นราขึ้น โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 2	34
รูปที่ 13	ตู้อะคริลิกใสและระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์	36 - 39
รูปที่ 14	ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ฉายรังสีที่ 50 kGy และที่ความเข้มข้น 5% กับถั่วลิสงชุดควบคุมที่วางไว้ด้านข้าง ระหว่างทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 30°C และความชื้นสัมพัทธ์ 80%	40
รูปที่ 15	ข้อมูลในตารางที่ 3 โดยแยกแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อระยะเวลาในการสังเกตเห็นราขึ้น	41 - 42

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

kGy (kilo Grey)

หน่วยวัดความแรงรังสี โดยปริมาณรังสี 1 เกรย์ (Grey) หมายถึง ปริมาณรังสีที่ถ่ายเทพลังงานจำนวน 1 Joule ให้แก่ตัวกลางซึ่งมีน้ำหนัก 1 กิโลกรัม

FTIR (Fourier Transform Infrared Spectrometer)

เทคนิค FTIR ใช้วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างทางเคมีของสารตัวอย่าง

GPC (Gel Permeation Chromatography)

เทคนิค GPC ใช้วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสารตัวอย่าง